



دانشکده علوم

پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی علوم سلولی و مولکولی

ارتباط چند شکلی های ژنتیکی  $SOD1A251G$  و  $CATC-262T$  با خطر ابتلا به سرطان  
روده ی بزرگ

توسط

ایمان جمهیری

استاد راهنما

دکتر ایرج سعادت

اساتید مشاور:

دکتر مصطفی سعادت

دکتر نوید مقرب

دکتر شاپور امیدواری

شهریور ۹۱



## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۸	فصل اول: مقدمه
۹	۱-۱ مقدمه ای بر سرطان روده ی بزرگ
۱۲	۲-۱ عوامل خطر سرطان روده ی بزرگ
۱۴	۳-۱ سرطان روده بزرگ و ژن های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز
۱۵	۱-۳-۱ ژن سوپر اکسید دیسموتاز یک
۱۷	۱-۳-۲ ژن کاتالاز
۱۸	۴-۱ هدف
۱۹	فصل دوم: مروری بر تحقیقات انجام شده
	۱-۲ مطالعات انجام شده بر روی ارتباط چند شکلی ژنتیکی A/G ۲۵۱ در ژن سوپراکسید دیسموتاز ۱ (rs۲۰۷۰۴۲۴) و ارتباط آن با چندین بیماری
۲۰	
	۲-۲ - مطالعات انجام شده بر روی ارتباط چند شکلی ژنتیکی C۲۶۲T در ژن کاتالاز (rs۱۰۰۱۱۷۹) و ارتباط آن با چندین بیماری
۲۱	

۲۳	..... فرضیه ۳-۲
۲۴	..... فصل سوم: روش انجام کار
۲۵	..... ۱-۳- نمونه گیری
۲۵	..... ۲-۳- وسایل مورد نیاز
۲۶	..... ۳-۳- مواد مورد نیاز
۲۶	..... ۱-۳-۳- محلول های لازم جهت استخراج DNA
۲۶	..... ۲-۳-۳- مواد لازم جهت انجام PCR
۲۷	..... ۳-۳-۳- مواد لازم جهت انجام الکتروفورز
۲۷	..... ۴-۳-۳- مواد لازم جهت اثر دادن آنزیم محدود کننده
۲۷	..... ۴-۳- تهیه محلول ها
۲۸	..... ۵-۳- استخراج DNA از خون محیطی به روش جوشاندن
۲۹	..... ۶-۳- واکنش زنجیره ای پلیمراز
۳۰	..... ۱-۶-۳- تعیین ژنوتیپ ژن SOD۱
۳۲	..... ۲-۶-۳- تعیین ژنوتیپ ژن کاتالاز
۳۳	..... ۷-۳- الکتروفورز
۳۴	..... ۸-۳- رنگ آمیزی ژل
۳۵	..... ۹-۳- تحلیل آماری
۳۶	..... فصل چهارم: نتایج

۳۷.....	۱-۴- مشخصات افراد شرکت کننده در مطالعه.....
۳۷.....	۲-۴- بررسی عوامل خطر دخیل در سرطان روده ی بزرگ .....
۳۸.....	۳-۴- بررسی تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت .....
۴۰.....	۴-۴- مقایسه فراوانی ژنوتیپی و آلی بین دو گروه شاهد و بیمار.....
۴۱.....	۵-۴- ارتباط سرطان روده ی بزرگ با اثر همزمان چندشکلی های ژنتیکی ژن های سوپر اکسید دیسموتاز ۱ و کاتالاز.....
۴۲.....	۶-۴- بررسی ارتباط ژنوتیپ های ژن های سوپر اکسید دیسموتاز ۱ و کاتالاز و برخی از عوامل خطر سرطان روده ی بزرگ.....
۴۴.....	بحث و نتیجه گیری.....
۴۹.....	پیشنهادات.....
۵۱.....	منابع.....

## چکیده

### ارتباط چند شکلی های ژنتیکی *SOD1A251G* و *CATC262T* با

### خطر ابتلا به سرطان روده ی بزرگ

به کوشش

ایمان جمهیری

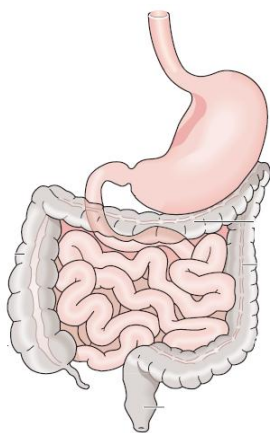
مسیر های آنزیم های آنتی اکسیدان از مهمترین مسیر های درگیر در سم زدایی گونه های فعال اکسیژن (ROS) و جلوگیری از صدمات ناشی از این گونه های فعال اکسیژن می باشند. بنابراین ممکن است بین چند شکلی های این ژن ها از جمله ژن سوپر اکسید دیسموتاز یک (*SOD1*) و ژن کاتالاز با بیماری هایی که مربوط به افزایش سن هستند مانند سرطان روده بزرگ ارتباط وجود داشته باشد. در این مطالعه مورد شاهدی ۲۰۴ فرد مبتلا به سرطان روده بزرگ و ۲۳۹ فرد سالم به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. ژنوتیپ های چند شکلی تک نوکلئوتیدی *SOD1-251 A/G* و *CAT-262 C/T* با روش PCR-RFLP مشخص گردیدند. تفاوت در فراوانی های گروه شاهد و بیمار را با آزمون کای ۲ و میزان خطر، نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان ۹۵٪ (CI) با کمک رگرسیون لجستیک به دست آوردیم. فراوانی آلل G چند شکلی ژنتیکی *SOD1* در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ به طور معنا داری بیشتر از گروه کنترل بود ( $P=0/019$ ,  $OR=1/71$ ,  $95\% CI=1/09-2/69$ ). نتایج این مطالعه نشان می دهد که آلل G می تواند یک عامل افزایش دهنده خطر ابتلا به سرطان روده ی بزرگ باشد. همچنین در مورد ژن کاتالاز ارتباط معنی داری بین آلل T چند شکلی ژنتیکی کاتالاز و بیماری سرطان روده ی بزرگ دیده نشد ( $p=0/403$ ,  $OR=0/86$ ,  $95\% CI=0/62-1/20$ ).

# فصل اول

## مقدمه

## مقدمه

روده بزرگ بخشی از سیستم گوارشی می باشد که شکلی شبیه به علامت سوال (?) دارد. روده باریک از انتهای معده شروع شده و به روده بزرگ ختم می شود و سپس روده بزرگ نیز از آنجا تا محل مقعد ادامه می یابد، روده بزرگ شامل دو بخش است. بخش اول اصطلاحاً کولون نامیده می شود که حدود ۱۸۰ سانتی متر طول دارد. بخش دوم نیز راست روده است که طول آن به ۱۵ تا ۲۵ سانتی متر می رسد. سرطان روده یک بیماری مخاطی می باشد. در این بیماری سلولهای سرطانی در داخل بافت روده شروع به تکثیر خارج از کنترل می کنند ( Yeatman 2001). در سراسر جهان هر ساله بیش از یک میلیون نفر به سرطان روده ی بزرگ مبتلا می شوند، و سرطان روده بزرگ<sup>۱</sup>، سومین سرطان شایع در دنیا بوده و دومین سرطان کشنده پس از سرطان ریه محسوب می شود. مرگ و میر ناشی از این سرطان ۱۱ درصد از کل مرگ و میر ناشی از سرطان ها را شامل می شود. اما خوشبختانه اگر این سرطان زود شناخته شود، یکی از قابل درمان ترین سرطان ها می باشد. در حال حاضر در ایران به ازای هر یکصد هزار نفر ۸/۷ نفر به بیماری سرطان روده ی بزرگ مبتلا می شوند که ۶/۳ نفر از آنها جان خود را بر اثر این سرطان از دست می دهند (WHO, 2011).



شکل ۱-۱ آناتومی روده ی بزرگ

---

<sup>1</sup> Colorectal cancer



## ۱-۱ مقدمه ای بر سرطان روده ی بزرگ

طبق پیش بینی سازمان بهداشت جهانی<sup>۱</sup> بیماری سرطان از شایع ترین بیماری های جهانی در دهه های آینده خواهد بود در نتیجه انتظار می رود تعداد موارد جدید سرطانی به ۱۵ میلیون نفر در سال ۲۰۲۰ افزایش یابد که حدود ۶۰٪ این موارد جدید در کشورهای کمتر توسعه یافته ایجاد می شوند. بیماری سرطان دومین عامل شایع مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته و سومین عامل مرگ و میر در کشورهای کمتر توسعه یافته است. در حال حاضر بیماری سرطان عامل ۱۱٪ مرگ و میر در سرتاسر جهان است که در سال های آینده روند رو به رشدی خواهد داشت چرا که با افزایش متوسط سنی جمعیت و افزایش عوامل خطر محیطی با افزایش بروز سرطان مواجه هستیم (WHO, 2011).

در ایران سرطان به طور کلی سومین عامل مرگ و میر است سالانه بیش از ۳۰/۰۰۰ نفر در اثر سرطان جان خود را از دست می دهند تخمین زده می شود سالانه بیش از ۷۰/۰۰۰ مورد جدید سرطانی در کشور اتفاق بیافتد و با افزایش امید به زندگی و درصد سالمندی در جمعیت کشور انتظار می رود بروز موارد سرطانی در دو دهه آینده به دو برابر افزایش یابد (WHO, 2011).

رشد سرطان روده ی بزرگ اغلب با ظهور و رشد پولیپ<sup>۲</sup> در سطح جداره داخلی روده ها همراه است. پولیپ در واقع یک بیرون زدگی قابل رویت از سطح مخاط است و انواع مختلفی دارد دو نوع از شاخص ترین این پولیپ ها، آدنوما<sup>۳</sup> و هایپر پلاستیک<sup>۴</sup> هستند که فقط نوع آدنومایی آن ممکن است در نهایت به سرطان روده ی بزرگ تبدیل شوند. اکثر پولیپها بدون علامت هستند و از نظر بالینی تشخیص داده نمی شوند و تنها در کمتر از ۵ درصد بیماران که دچار پولیپ در روده بزرگ هستند، خون در آزمایش مدفوع مشاهده می گردد که این مورد نیز در تشخیص زودرس، درمان به موقع و جلوگیری از پیشرفت این پولیپ ها به سمت سرطان اهمیت بسیار زیادی دارد (Noffsinger et al.2009).

---

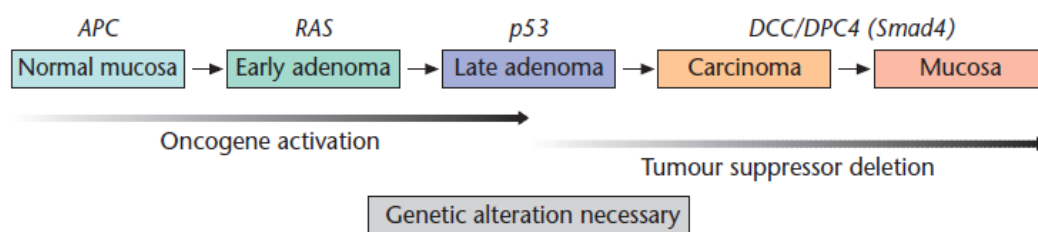
<sup>1</sup> World Health Organization

<sup>2</sup> Polyp

<sup>3</sup> Adenomatous

<sup>4</sup> Hyperplastic

سرطان روده ی بزرگ به طور معمول طی یک دوره ی ۱۰ تا ۱۵ ساله توسعه می یابد. گسترش سرطان روده ی بزرگ چندین مرحله دارد، که شامل تجمع موتاسیون ها در ژن های سرکوبگر تومور<sup>۱</sup> و پروتوآنکوژن ها<sup>۲</sup> می باشد. برای شروع و پیشرفت سرطان روده ی بزرگ چندین تغییر ژنتیکی ضروری می باشد، از جمله این تغییرات غیر فعال شدن ژن سرکوبگر تومور APC (Adenomatous polyposis coli)، همچنین موتاسیون در دیگر ژن های سرکوبگر تومور مثل p53 و SMAD2,4 و پروتوآنکوژن K-Ras می باشد. (Yeatman et al. 2001). علاوه بر موتاسیون های ذکر شده تغییرات اپی ژنتیکی در پروموتور های این ژن ها نیز می تواند باعث کاهش بیان چنین ژن هایی شود و در نتیجه تغییرات اپی ژنتیکی نیز می توانند یک عامل ایجاد کننده سرطان روده ی بزرگ به حساب بیایند (Migliore et al., 2011).



شکل ۱-۲ مدل چند مرحله ای پیشرفت سرطان روده بزرگ که شامل تغییرات هم در آنکوژن ها و هم در تومور ساپروسر می باشد.

<sup>1</sup> Tumor suppressor genes

<sup>2</sup> Proto-Oncogene

## سرطان روده بزرگ را می توان به دو نوع تقسیم کرد:

۱- نوع تک گیر<sup>۱</sup>: که حدود ۷۰ تا ۸۰ درصد سرطان روده را تشکیل می دهد. در این نوع سرطان، سابقه مشخصی در بستگان بیمار از نظر ابتلا به سرطان روده و یا سایر سرطان‌های مرتبط وجود ندارد و فرد به صورت تک گیر به بیماری دچار می شود. این فرم اغلب در افراد بالای سن ۵۰ سال مشاهده می شود. در این نوع سرطان، سن و عوامل محیطی نقش مهم تری نسبت به عوامل ژنتیکی ایفا می کنند. غربالگری برای این نوع سرطان از سن ۵۰ سالگی در تمامی افراد شروع می شود که این غربالگری نقش عمده‌ای در شناسایی بیماران در مراحل اولیه بیماری و کاهش میزان مرگ و میر آن داشته است (Yeatman et al. 2001).

۲- نوع ارثی<sup>۲</sup>: امروزه مشخص شده که سرطان روده در بعضی خانواده‌ها بیش از حد طبیعی مشاهده می شود. بر اساس مطالعات اپیدمیولوژی، میزان خطر ابتلا به سرطان روده در افراد فامیل درجه یک بیمار، به ۱/۶ تا ۸ برابر افزایش می یابد. این نوع از سرطان‌ها در حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد کل موارد سرطان روده را شامل می شود (Jaspersen et al. 2010). در این فرم ژن فرد، نقش بسیار مهمی در ابتلای وی به بیماری ایفا می کند. شایع‌ترین سندرم ارثی شناخته شده سندرم لینچ<sup>۳</sup> است که دو نوع آن وجود دارد:

سندرم لینچ یک: معمولاً در بستگان فرد بیمار، سرطان روده شایع است. قابل ذکر است که این نوع سندرم را به عنوان familial colon cancer نیز می شناسند (Munoz et al. 2011).

سندرم لینچ دو: علاوه بر سرطان روده، تومورهای تیروئید، رحم، تخمدان و سینه در بستگان فرد شایع می باشد که تا ۸۰ درصد این افراد به سرطان دچار می شوند (Jaspersen et al., 2010).

---

<sup>1</sup> Sporadic

<sup>2</sup> Inherited

<sup>3</sup> Lynch Syndrome

## ۱-۲ عوامل خطر سرطان روده ی بزرگ:

فاکتورهای زیادی شناخته شده اند که خطر سرطان روده ی بزرگ را افزایش می دهند. از جمله این فاکتورها سن، جنس، رژیم غذایی، نحوه زندگی، تاریخچه سرطان روده بزرگ یا راست روده، تخمدان، رحم و سرطان پستان در خود شخص و افراد خویشاوند شخص مورد نظر، تاریخچه ابتلاء به پولیپ در روده بزرگ، بیماری التهابی روده<sup>۱</sup> (IBD)، نژاد و قومیت می باشند.

۱- سن: سرطان روده بزرگ اغلب در افراد بالاتر از ۵۰ سال روی می دهد ( American cancer society., 2011 ).

۲- جنس: به طور کلی، بروز سرطان روده ی بزرگ و میزان مرگ و میر ناشی از آن در مردان حدود ۳۵-۴۰ درصد نسبت به زنان بالاتر است. دلیل این موضوع به روشنی مشخص نیست، اما به نظر می رسد که به دلیل بر همکنش ترکیبات مربوط به اختلاف هورمون های جنسی در مردان و زنان و عوامل خطری که در معرض آنها هستند باشد ( American cancer society., 2011 ).

۳- رژیم غذایی و نحوه زندگی: سیگار کشیدن، مصرف الکل، چاقی، رژیم غذایی پرچرب و یا کم فیبر افراد را در معرض خطر سرطان روده بزرگ قرار می دهد. تغذیه به عنوان بزرگترین عامل اتیولوژیک در سرطان روده بزرگ محسوب می شود خصوصاً رژیم های سرشار از چربی حیوانی و کالری بالا، درضمن استعمال دخانیات با تشکیل آدنومهای کولون مرتبط است ( Doyle et al. 2007 ). همچنین فعالیت های فیزیکی نیز می تواند خطر ابتلا به سرطان روده ی بزرگ را کاهش دهد ( Harriss et al. 2009 ).

۴- وجود پولیپ در روده ی بزرگ: پولیپوز کولون یا پولیپهای خانوادگی آدنوماتوز<sup>۲</sup> (FAP) یک بیماری نادر ارثی است که بصورت اتوزومال غالب<sup>۳</sup> منتقل می شود، و با ظهور هزاران پولیپ آدنوماتو در سراسر روده بزرگ مشخص می شود. پولیپهای کولون در این بیماری معمولاً پس از

<sup>۱</sup> Inflammatory bowel disease

<sup>۲</sup> Familial adenomatous polyposis

<sup>۳</sup> Autosomal Dominant

بلوغ و تا سن ۲۵ سالگی بوجود می آیند و اگر پولیپوز به روش جراحی کولکتومی<sup>۱</sup> (برداشت کامل روده بزرگ و متصل کردن انتهای روده کوچک یعنی ایلئوم به مقعد) کامل درمان نشود، امکان دارد این پولیپ ها تا قبل از سن ۴۰ سالگی باعث ایجاد سرطان روده شوند. فرزندان اینگونه بیماران با ۵۰ درصد خطر ایجاد این بیماری همراه هستند و باید حداکثر تا سن ۳۵ سالگی با دقت توسط پروکتوسیگموئیدوسکوپی<sup>۲</sup> غربالگری شوند. قابل ذکر می باشد یک روش مناسب برای تشخیص افراد قبل از اینکه پولیپها ایجاد شوند غربالگری ژنتیکی است (آزمون DNA از سلولهای تک هسته ای خون محیطی و جستجوی ژن APC جهش یافته) (Half et al., 2009).

۵- تاریخچه خانوادگی سرطان کولون: اگر یکی از والدین، برادر یا خواهر فردی مبتلا به یک نوع سرطان خاص به ویژه سرطان روده ی بزرگ باشد احتمال اینکه خود فرد نیز مبتلا به سرطان روده ی بزرگ شود زیاد می باشد (Yeatman 2001).

وجود سرطان کولون ارثی غیر پولیپوز<sup>۳</sup> (HNPCC) که بنام سندرم لینچ هم معروف است در وابستگان فرد، وجود چندین مورد سرطان روده بزرگ تایید شده در بستگان نزدیک فرد، وجود سابقه سرطان روده بزرگ حداقل در دو نسل قبلی فرد و بروز یک یا چند مورد سرطان روده ی بزرگ قبل از سن ۵۰ سالگی در خانواده فرد مورد نظر انجام غربالگری ژنتیکی را در این افراد ضروری می کند. همچنین همراهی این سرطان با سرطان های دیگر بویژه با سرطان های تخمدان و اندومتر در زنان قابل توجه است و توصیه می شود اعضای چنین خانواده هایی از ۲۵ سالگی به بعد هر دو سال یکبار تحت کولونوسکوپی<sup>۴</sup> قرار گیرند (Lin 2012).

۶- بیماری التهابی روده: سرطان روده بزرگ در بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده مزمن، دارای فراوانی زیادی می باشد. خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ در یک بیمار مبتلا به بیماری التهابی روده ، پس از مدت ده سال افزایش می یابد بطوریکه پس از ۲۵ سال سرطان در ۱۰ تا ۳۰ درصد بیماران ایجاد می شود. نشانه هایی نظیر اسهال خونی ، دردهای کرامپی شکم<sup>۵</sup> و انسداد روده اغلب

<sup>۱</sup> Colostomy

<sup>۲</sup> Proctosigmoidoscopy

<sup>۳</sup> Hereditary nonpolyposis colorectal cancer

<sup>۴</sup> Colonoscopy

<sup>۵</sup> Crampy stomach pain

اغلب شکایاتی هستند که در هنگام عود بیماری التهابی روده ایجاد می شوند و این شکایات حتی می توانند علامت وجود یک تومور در روده نیز باشند (Roifman et al., 2009).

۷- نژاد و قومیت: میزان بروز مرگ و میر ناشی از سرطان روده ی بزرگ در مردان و زنان آمریکایی آفریقایی تبار نسبت به سفید پوستان به ترتیب ۲۰ درصد و ۴۵ درصد بالاتر می باشد. میزان بروز مرگ و میر در میان دیگر قومیت ها و نژاد ها پائین تر از سفید پوستان می باشد ( American Cancer Society., 2011).

### ۱-۳- سرطان روده بزرگ و ژن های سوپر اکسید دیسموتاز<sup>۱</sup> و کاتالاز<sup>۲</sup>:

در طول زندگی ترکیبات مضر زیادی مثل انواع موتازن ها<sup>۳</sup> از راه های مختلفی مثل آلودگی مواد غذایی و تنفس هوای آلوده به بدن راه پیدا می کنند. همچنین اشعه ی فرا بنفش می تواند باعث تولید گونه های فعال اکسیژن<sup>۴</sup> بشود (Hayes et al., 1995). علاوه بر این، این ترکیبات طی فرآیند های متابولیکی توسط خود موجود زنده نیز می تواند تولید شود که در نهایت باعث ایجاد شوک اکسیداتیو<sup>۵</sup> در بدن می شوند. از آنجائیکه موتازن ها و گونه های فعال اکسیژن با بیماری های مختلف در انسان از جمله سرطان روده ی بزرگ ارتباط دارد مکانیسم های دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی متنوعی در بدن برای از بین بردن و سم زدایی<sup>۶</sup> این ترکیبات وجود دارد. از جمله آنزیم های دخیل در سیستم آنزیمی سم زدایی این ترکیبات در موجودات سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز می باشد (Halliwell et al., 1997).

---

<sup>1</sup> Superoxide dismutase

<sup>2</sup> Catalase

<sup>3</sup> mutagen

<sup>4</sup> Reactive oxygen species

<sup>5</sup> Oxidative stress

<sup>7</sup> Detoxification

### ۱-۳-۱- ژن سوپر اکسید دیسموتاز یک (SOD1):

سوپر اکسید دیسموتاز یک کلاس آنزیمی هست که باعث تبدیل سوپر اکسید<sup>۱</sup> به اکسیژن و هیدروژن پراکسید<sup>۲</sup> می شود بنابراین این آنزیم دارای اهمیت آنتی اکسیدانتی می باشد. در موجودات ۴ نوع متفاوت از این کلاس آنزیمی دیده شده که شامل سوپر اکسید دیسموتاز مس/روی، سوپر اکسید دیسموتاز آهن، سوپر اکسید دیسموتاز منگنز و سوپر اکسید دیسموتاز نیکل می باشند (Tainer et al 1983) (Borgstahl et al., 1992).

سوپر اکسید دیسموتاز مس/روی در سیتوزول، کلروپلاست، پراکسیزوم و آپوپلاست دیده می شود. سوپر اکسید دیسموتاز آهن اغلب در کلروپلاست دیده می شود ولی در باکتری ها و پراکسی زوم ها نیز دیده میشود، سوپر اکسید دیسموتاز منگنز در میتوکندری و پراکسی زوم ها و در بعضی از باکتریها دیده می شود. سوپر اکسید دیسموتاز نیکل ساختاری هگزامر دارد که هر قسمت N-terminal آن یک نیکل را کلاته می کند. این سوپراکسید دیسموتاز نسبت به بقیه دارای فراوانی کمتری می باشد (Antonyuk et al., 2009) (Borgstahl et al., 1996).

در پستانداران از جمله انسان و اکثر مهره داران سه فرم سوپر اکسید دیسموتاز وجود دارد. سوپراکسید دیسموتاز ۱ در سیتوپلاسم، سوپراکسید دیسموتاز ۲ در میتوکندری و سوپراکسید دیسموتاز ۳ در محیط خارج سلولی قرار دارد. سوپراکسید دیسموتاز ۱ به صورت دایمر می باشد در حالیکه (سوپر اکسید دیسموتاز ۲ و ۳) به صورت تترامر می باشد (Cao et al., 2008). سوپراکسید دیسموتاز ۱ و سوپراکسید دیسموتاز ۳ جز سوپر اکسید دیسموتاز مس/روی می باشند در حالیکه سوپراکسید دیسموتاز ۲ در جایگاه فعال خود دارای منگنز می باشد. ژن سوپراکسید دیسموتاز ۱ در موقعیت 21q22.1 قرار دارد. ساختار ژن های SOD1 در گونه های مختلف دارای ۵ اگزون و ۴ اینترون می باشد که از این لحاظ شباهت قابل توجه ای بین SOD1 گونه های مختلف دیده می شود (شکل ۱-۳). طول ژن SOD1، ۹/۳۰۷ کیلو جفت باز می باشد (Entrez gene ID 6647). شکل مونومریک پروتئین SOD1 دارای ۱۵۳ اسید آمینه و وزن مولکولی آن

<sup>۱</sup> Superoxide

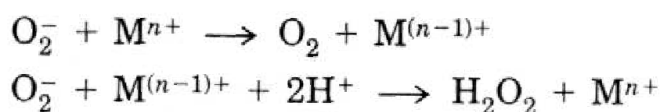
<sup>۲</sup> Hydrogen peroxide

۱۶ کیلو دالتون می باشد. در شکل زیر همچنین چند شکلی ژنتیکی مورد بررسی در این مطالعه که در اینترون ۳ قرار دارد نیز نشان داده شده است.



شکل ۱-۳ شکل شماتیک ژن سوپراکسید دیسموتاز ۱ و جایگاه چند شکلی ژنتیکی مورد بررسی

فرم اکسید شده آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ۱ با یک یون سوپراکسید برای تشکیل اکسیژن واکنش می دهد و فرم احیا ایجاد می شود. سپس فرم احیای آنزیم با سوپراکسید دوم واکنش می دهد و هیدروژن پراکسید و آنزیم اکسید یافته را تولید می کند.



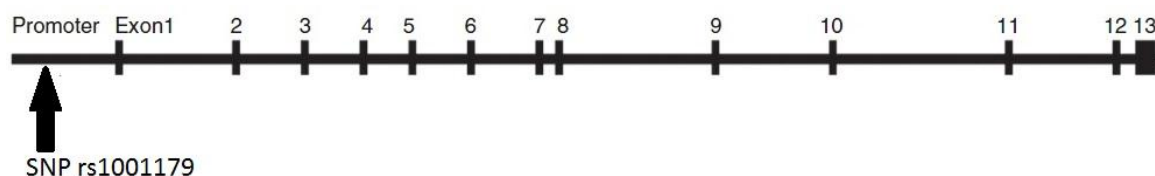
در اینجا M می تواند ( Ni (n=3); Fe (n=3); Mn(n=3); Cu (n=2) ) باشد.

طبق واکنش های بالا سوپراکسید که از گونه های فعال اکسیژن در سلول ها می باشد طی چند مرحله به اکسیژن و هیدروژن پراکسید تبدیل می شود ( Lyons 1999 ). اهمیت فیزیولوژیکی سوپراکسید دیسموتاز ۱ در موشهایی که از طریق مهندسی ژنتیک در آنها این ژن حذف شده بود مشخص شد. موشهایی که فاقد ژن سوپراکسید دیسموتاز ۱ می باشند به طیف وسیعی از آسیب ها مثل کارسینومای سلولهای کبدی و به بیماریهای ماهیچه ای وابسته به سن دچار می شوند و همچنین طول عمر موشها به طور محسوسی کاهش پیدا می کند همچنین دروزوفیلیا که فاقد ژن سوپراکسید دیسموتاز ۱ می باشد دارای طول عمر کوتاهتری است (Li 1995).



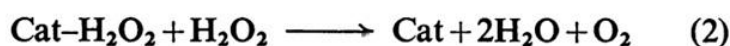
### ۱-۳-۲- ژن کاتالاز:

کاتالاز تقریباً در تمام موجوداتی که در معرض اکسیژن قرار دارند وجود دارد. این آنزیم در یوکاریوت‌ها معمولاً درون اندامک پراکسیزوم قرار دارد. همه‌ی حیوانات از کاتالاز در اندام‌هایشان استفاده می‌کنند و غلظت این آنزیم در کبد بیشتر از بقیه‌ی اندام‌ها می‌باشد. همچنین کاتالاز در تمام میکروارگانیسم‌های هوازی و حتی غیر هوازی مثل متانوسارسینا<sup>۱</sup> وجود دارد (Brioukhanov et al., 2006). ژن کاتالاز دارای ۳۳/۱۳۶ کیلو جفت باز می‌باشد و دارای ۱۳ اگزون و ۱۲ اینترون می‌باشد (Entrez gene ID 847) (Liu 2010). در شکل ۱-۳ ساختار ژن کاتالاز و همچنین جایگاه چند شکلی ژنتیکی مورد بررسی نشان داده شده است. این آنزیم شکست هیدروژن پراکسید را به آب و اکسیژن کاتالیز می‌کند. همچنین کاتالاز به دلیل اینکه می‌تواند میلیون‌ها مولکول هیدروژن پراکسید را به آب و اکسیژن تبدیل کند از جمله آنزیم‌هایی است که دارای عدد Turn over بالایی در میان آنزیم‌ها می‌باشد (Goodsell 2004).



شکل ۱-۴ شکل شماتیک ژن کاتالاز و جایگاه چند شکلی ژنتیکی مورد بررسی

کاتالاز دارای ۴ زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی می‌باشد که هر کدام از زنجیره‌ها دارای ۵۰۰ اسید آمینه می‌باشد. این آنزیم دارای ۴ گروه پرفرین آهنی<sup>۲</sup> می‌باشد که این گروه‌ها به کاتالاز اجازه می‌دهند تا با مولکول‌های پراکسید هیدروژن وارد واکنش بشوند (Goodsell 2004). مکانیسم کلی عملکرد کاتالاز در دو مرحله به صورت زیر می‌باشد (Oshino 1974).



<sup>1</sup> *Methanosarcina*

<sup>2</sup> *Iron porphyrin group*

در اینجا Fe در مرکز گروه هم قرار دارد. هیدروژن پراکسید وارد جایگاه فعال آنزیم کاتالاز می شود و با اسید آمینه های Asn147 و His74 بر همکنش می دهد که این اتصال باعث می شود پروتون (H) بین اتم های اکسیژن انتقال پیدا کند و باعث تشکیل H<sub>2</sub>O و ایجاد فرم O=Fe(IV) آنزیم کاتالاز شود. در مرحله ی بعدی فرم O=Fe(IV) کاتالاز با هیدروژن دوم هیدروژن پراکسید بر همکنش می دهد و در نهایت اکسیژن و فرم Fe(III) کاتالاز باز تولید می شود (Reid 1981). کاتالاز همچنین توسط هیدروژن پراکسید می تواند متابولیت ها و توکسین های متنوعی مثل الكل، فرمالدهید، اسید فرمیک، فنول ها و استالدهید ها را کاتالیز کند و آنها را به ترکیباتی که کمتر مضر هستند تبدیل کند (Dijken et al. 1975).

#### ۱-۴- هدف:

از آنجا که چند شکلی تک نوکلئوتیدی<sup>۱</sup> از معمولترین تنوعات ژنتیکی در ژنوم انسان هستند و پتانسیل زیادی در بررسی رابطه آن با تعداد زیادی از بیماری های چند عاملی مثل سرطان دارند (Erichsen et al. 2004) و از طرف دیگر با توجه به نقش مهم ژن سوپراکسید دیسموتاز ۱ و کاتالاز در سم زدایی گونه های فعال اکسیژن و در نتیجه اهمیتی که این ۲ ژن در حفظ یک پارچگی ژنوم وجود دارد (Halliwell 1997) بر آن شدیم تا ارتباط چند شکلی تک نوکلئوتیدی A251G (SNP) که در ناحیه IVS3 ژن سوپراکسید دیسموتاز ۱ قرار دارد و همچنین C262T که در ناحیه پروموتور ژن کاتالاز قرار دارد را با میزان خطر ابتلا به سرطان روده ی بزرگ بررسی کنیم.

---

<sup>1</sup> Single Nucleotide Polymorphism

# فصل دوم

## مروری بر تحقیقات انجام شده

## مروری بر تحقیقات انجام شده

۱-۲- مطالعات انجام شده بر روی ارتباط چند شکلی ژنتیکی A/G ۲۵۱ در ژن سوپراکسید دیسموتاز ۱ (rs۲۰۷۰۴۲۴) و ارتباط آن با چندین بیماری:

تا کنون چندین مطالعه در زمینه چند شکلی آلی A/G ۲۵۱ در ژن SOD۱ (rs۲۰۷۰۴۲۴) و ارتباط آن با چندین سرطان بررسی شده است.

در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۶ توسط Oestergaard و همکارانش بر روی ۲۵ چندشکلی متعلق به ۱۰ ژن از جمله این چندشکلی در یک جمعیت ۲۲۷۱ نفری در بریتانیا انجام دادند ارتباط بین این چند شکلی با سرطان سینه<sup>۱</sup> بررسی شد. نتایج نشان داد که هیچ ارتباطی بین این چند شکلی و سرطان سینه وجود ندارد (Oestergaard et al. 2006).

در مطالعه ی دیگری که توسط Cebrian و همکارانش در سال ۲۰۰۶ انجام شده بود بین این چند شکلی ژنتیکی و سرطان سینه مجددا ارتباطی دیده نشد (Cebrian 2006).

در سال ۲۰۰۷، Kang و همکارانش مطالعه ای بر روی ۱۱۳۸ بیمار مبتلا به سرطان پروستات<sup>۲</sup> به منظور بررسی احتمال ارتباط چند شکلی آلی A/G ۲۵۱ در ژن سوپراکسید دیسموتاز ۱ با خطر ابتلا به سرطان پروستات انجام دادند. بر اساس نتایج به دست آمده ارتباط معناداری بین آلل G و خطر ابتلا به سرطان پروستات مشاهده نشد (Kang et al. 2007).

در مطالعه دیگر که توسط Udler و همکارانش در سال ۲۰۰۷ انجام داده بودند بین ژنوتیپ های این چند شکلی و سرطان سینه ارتباطی مشاهده نشد (Udler 2007).

در مطالعه ی دیگر که در سال ۲۰۰۸ توسط Rajaraman و همکارانش بر روی ۳۴۲ بیمار مبتلا به تومورهای مغزی انجام شد ارتباطی بین این پلی مورفیسم و تومورهای مغزی دیده نشد (Rajaraman 2008).

---

<sup>1</sup> Breast cancer

<sup>2</sup> Prostate cancer